

## Pemisahan dan Pemurnian Senyawa *Sulforaphane* pada Brokoli (*Brassica oleracea* L.) dan Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel Kanker T47D

### The Separation and Purification Sulforaphane Compounds in Broccoli (*Brassica oleracea* L.) and Cytotoxic Activities against T47D Cancer Cells

Muladi Putra Mahardika\*, Azis Saifudin

Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy,  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. Ahmad Yani, Pabelan, Surakarta 57162, Indonesia

\*Corresponding author email: muladimahardika@gmail.com

Received 23-12-2020    Accepted 13-03-2021    Available online 04-10-2021

#### ABSTRAK

Brokoli (*Brassica oleracea* L.) merupakan sayuran dalam keluarga Brassicaceae (Cruciferae) yang kaya akan senyawa bioaktif, salah satunya adalah *sulforaphane*. Penelitian menunjukkan bahwa senyawa *sulforaphane* dalam brokoli memiliki potensi sebagai agen anti kanker. Metode isolasi dan analisa *sulforaphane* secara sederhana dan murah dibutuhkan untuk mendapatkan *sulforaphane* murni dengan mengoptimalkan jenis pelarut dan fase gerak dalam proses ekstraksi dan pemisahannya. Senyawa *sulforaphane* diperoleh melalui proses ekstraksi, fraksinasi dan purifikasi serta proses identifikasi menggunakan NMR dan FT-IR. Isolat hasil purifikasi diuji aktivitas antikanker dengan metode 3-(4,5-dimethyl thiazolyl)-2 - yl)-2, 5- diphenyl tetrazolium bromide (MTT) terhadap sel T47D. Hasil penelitian menunjukkan *sulforaphane* dapat di isolasi dan di analisis dengan FTIR serta H-NMR dengan metode ekstraksi yang sederhana. Hasil isolasi dan identifikasi senyawa diperoleh satu isolat, yaitu *sulforaphane* yang merupakan senyawa golongan *isothiocyanate*. Nilai IC<sub>50</sub> terhadap sel T47D dari ekstrak brokoli, fraksi etil esetat brokoli, dan isolat masing-masing sebesar 46.853,00; 25.559,00; dan 109.950,00 µg/ml.

**Kata kunci:** *Brassica oleracea* L., MTT assay, senyawa aktif, sel T47D, sitotoksik, *sulforaphane*

#### ABSTRACT

Broccoli (*Brassica oleracea* L.), a vegetable in the Brassicaceae (Cruciferae) family rich in bioactive compounds, includes *sulforaphane*. *Sulforaphanes* in broccoli have potential use as anticancer agents. A simple and inexpensive method of isolation of *sulforaphane* is needed to obtain pure *sulforaphane* by optimizing the type of solvent and mobile

*phase in the extraction and separation process. Sulforaphane compounds obtained through extraction, fractionation, and purification processes and the identification process were analyzed using NMR and FT-IR. The purified isolates were tested for anticancer activity using the 3- (4,5-dimethyl thiazolyl-2 - yl) -2, 5- diphenyl tetrazolium bromide (MTT) method against T47D cells. The results showed that sulforaphane could be isolated and analyzed by FTIR and H-NMR with a simple extraction method. The isolation and compound identification results in one isolate, namely sulforaphane, a compound of the isothiocyanate group. The  $IC_{50}$  values for T47D cells from broccoli extract, broccoli ethyl acetate fraction, and isolates were respectively 46,853.00; 25,559.00; and 109,950.00  $\mu\text{g/ml}$ .*

**Keywords:** active compounds, *Brassica oleracea* L., cytotoxic, MTT assay, sulforaphane, T47D cells.

## Pendahuluan

Studi epidemiologis telah menunjukkan bahwa asupan sayuran dan buah yang tinggi berkorelasi dengan risiko rendah penyakit fatal, seperti kanker. Saat ini kanker penyebab utama kematian kedua di dunia setelah penyakit gangguan pembuluh darah. Proses perkembangan kanker adalah konsekuensi dari perubahan genetik yang merupakan proses dengan banyak tahap yang mengarah pada gangguan fungsi biologis dasar kemudian ke karsinoma invasif. Diperkirakan bahwa jumlah kasus kanker baru akan meningkat 70% di seluruh dunia pada tahun 2030. Bahkan perkiraan Organisasi Kesehatan Dunia sekitar 17,5 juta kasus kanker. Walaupun saat ini banyak obat kanker yang sudah diproduksi, masih perlu adanya penemuan kandidat anti kanker baru atau senyawa yang memiliki efek sinergis terhadap anti kanker (Suresh et al., 2017).

Salah satu tanaman suku kubis-kubisan atau Brassicaceae yang

merupakan tanaman sayuran adalah brokoli (*Brassica oleracea* L.), yang mengandung lemak, protein, karbohidrat, serat, air, zat besi, kalsium, mineral dan bermacam-macam vitamin seperti A, C, E, riboflavin, dan nikotinamide, juga mengandung sulforaphane, yaitu suatu senyawa pencegah penyakit kanker. Karena itu sayuran brokoli ini dinobatkan sebagai tanaman obat (Rumondor et al., 2013).

Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi brokoli dapat menurunkan risiko kanker payudara (Pledge-Tracy et al., 2007), kulit (Tahata et al., 2018) dan prostat.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memproduksi atau mengisolasi *sulforaphane* murni, menurut Chen et al (2011) mengisolasi *sulforaphane* dengan sintesis kimiawi langsung memiliki beberapa kelemahan seperti penggunaan beberapa zat sangat beracun yang terlibat dalam proses sintesis dan pemurnian lebih lanjut untuk menghilangkan residu beracun. Oleh karena itu, penggunaan

*sulforaphane* alami yang dimurnikan dari tanaman lebih disukai untuk diteliti. Sampai saat ini, metode isolasi untuk memurnikan *sulforaphane* termasuk kromatografi HPLC preparative (Matusheski et al., 2004), Gas Chromatography (GC) (Wieczorek & Jelen, 2019), GC dengan Mass Spectrometry (GC-MS) (Rahmatia, 2016), Solid Phase Extraction (Han & Row, 2011), Column Chromatography (Hafezian et al., 2019), Low-Speed Countercurrent Chromatography (LPCC) (Hao Liang et al., 2005), dan *Macroporous Resin Adsorption Chromatography* (Li et al., 2008). Karena metode yang ada mahal, elaboratif dan tidak sesuai untuk pemurnian pada skala industri. Lebih jauh, metode pemisahan yang memakan waktu, terutama pada proses ekstraksi. Pada saat yang sama, sebagian besar pelarut yang digunakan adalah metanol, diklorometana atau aseton. Pelarut-pelarut ini sangat toksik atau oksidan kuat meskipun beberapa dari mereka dengan persen perolehan kembali yang tinggi. Selain beberapa masalah diatas, sifat *sulforaphane* tidak stabil pada pH, suhu, panas, cahaya, dan oksigen sehingga pengembangan metode dan teknologi yang sederhana untuk mengisolasi *sulforaphane* yang stabil adalah penelitian yang berharga.

Berdasarkan hal-hal diatas mendorong penulis melakukan penelitian tentang metode ekstraksi *sulforaphane* yang sederhana dan murah dari tanaman brokoli. Selain itu, Analisa kualitatif FT-IR dan H-NMR

digunakan untuk penentuan isolat *sulforaphane* yang diperoleh dan uji sitotoksik terhadap sel T47D dengan metode MTT Assay.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain: ELISA reader (BioTek ELx800), *Laminar Air Flow* (Labconco), NMR (Bruker 400 spectrometers dan JEOL ECA 400), *rotary evaporator* (Heldolp G3), *waterbath* (Mettler WNB 14), spektrometer FT-IR (Shimadzu), spectrometer NMR (Bruker 400 dan JEOL ECA 400).

Bahan yang digunakan yaitu tanaman brokoli, aseton, dimetilsulfoxide (DMSO), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), 5% fungizone, phosphate buffer saline (PBS), plat KLT silika gel (merck kieselgel 60 GF254 0,25 mm), silika gel impregnasi (merck kieselgel 60 GF254 0,2-0,5 mm), silika gel 60 RP-18 F254 (merck), Roswell Park Memorial Institute (RPMI), sel MCF-7, sel T47D, silika gel (merck Sie-gel 60 GF254), sodium dodecyl sulphate (SDS), tripsin-EDTA 0,25%.

### Jalannya Penelitian

#### 1. Pengumpulan dan determinasi tanaman

Bahan penelitian yang digunakan adalah akar dari tanaman brokoli yang memiliki nama latin *Brassica oleracea* L. Bahan penelitian dalam bentuk simplisia, diperoleh dari daerah Tawang mangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa

tengah. Adapun taksonomi dari tanaman brokoli adalah sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Taksonomi dari tumbuhan brokoli (Dalimartha, 2015)

Takson	Detail
Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Sub divisi	Magnoliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Ordo	Capparales
Famili	Brassicaceae
Genus	Brassica
Spesies	<i>Brassica oleracea</i> L.

## 2. Ekstraksi

Ekstraksi tanaman brokoli dilakukan dengan metode ekstraksi sonikasi. Serbuk brokoli sebanyak 488.6 gram diekstraksi menggunakan pelarut metanol 2 l diaduk sampai homogen dan disonikator selama 3 jam dan pemekatan ekstrak dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C.

## 3. Fraksinasi

Fraksinasi sampel dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Ekstrak kental brokoli sebanyak 31,73 g dimasukkan dalam corong pisah kemudian dilarutkan dengan n-hexan 100 ml diulang 3 kali replikasi hingga diperoleh fraksi n-hexan. Selanjutnya ekstrak kental dilarutkan dengan etil asetat 100 ml diulang 3 kali, ditampung lalu diuapkan, diperoleh fraksi etil asetat 6.891 g. Sehingga diperoleh tiga fraksi, yaitu fraksi n-hexan, fraksi etil asetat, dan fraksi methanol. Sebanyak 15,75 g fraksi

etil asetat ditambah silika gel impregnasi (merck kieselgel 60 GF<sub>254</sub> 0,2-0,5 mm) sebanyak 40 g. kemudian difraksinasi dengan metode kromatografi kolom dengan fase diam silika GF<sub>254</sub> (0,2-0,5 mm) dan fase gerak n-heksana, etil asetat dan campurannya secara gradien (Atun Sri, 2014), yaitu etil asetat 100%, etil asetat - n-hexan dengan rasio 4:1, 3:2, 2:2, 2:3, dan 1:4, serta n-hexan 100% masing-masing sebanyak 300 ml. Setiap hasil fraksi dicek melalui KLT dengan fase diam silika GF<sub>254</sub> RP-18 dan fase gerak metanol - air (1:1) serta fraksi yang memiliki noda yang sama digabungkan. Dari proses fraksinasi diperoleh 3 fraksi gabungan berdasarkan pada profil KLT-nya.

## 4. Purifikasi

Purifikasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom dengan adsorben sephadex LH-20 dan dielusi menggunakan metanol. Hasil sub fraksi di analisis dengan KLT fase diam silika GF<sub>254</sub> dan fase gerak methanol – air (1:1) selanjutnya yang memiliki noda tunggal dilakukan KLT preparatif menggunakan fase diam silica GF<sub>254</sub> RP-18 dengan fase gerak kloroform. Senyawa hasil isolasi kemudian dicek kemurniannya menggunakan KLT pada fase diam silika GF<sub>254</sub> dan sdengan fase gerak kloroform. Hasilnya dikeringkan lalu ditimbang bobotnya.

## 5. Identifikasi dan penentuan struktur senyawa

Isolat dianalisis menggunakan FT-IR. 50 mg sampel ditambahkan KBr sampai 100 mg. Jika spektrum yang dihasilkan relatif pendek berarti sampel yang tercampur sedikit sedangkan jika spektrum yang dihasilkan relatif panjang berarti sampel yang tercampur banyak.

Analisa 1D NMR (H-NMR) dilakukan dengan melarutkan isolat terlebih dahulu dalam pelarut kloroform deuterium ( $\text{CDCl}_3$ ) kemudian dimasukan ke dalam tube NMR. Selanjutnya dimasukan kedalam alat NMR dan di analisis pada gelombang 400 MHz.

#### 6. Uji sitotoksik metode *MTT Assay*

Masing-masing ditimbang 10 mg dan dilarutkan dalam 250  $\mu\text{L}$  pelarut DMSO, kemudian ditambahkan media kultur RPMI ad 1 mL. Dibuat larutan stok 10 mg/ mL kemudian dilakukan pengenceran, sehingga didapatkan konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500  $\mu\text{g/mL}$ . Sel T47D dimasukkan ke dalam plate dengan kepadatan  $1 \times 10^4$  sel/sumuran, setelah itu diinkubasi semalam kemudian diberi perlakuan ekstrak, fraksi etil asetat dan isolat brokoli. Sampel dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dengan 3 kali replikasi, lalu diinkubasi pada inkubator  $\text{CO}_2$  selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, kemudian ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan MTT ke dalam masing-masing sumuran dan diinkubasi

selama 2 jam pada incubator  $\text{CO}_2$  dengan suhu  $37^\circ\text{C}$ . Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal berwarna ungu setelah itu ditambahkan reagen stopper berupa SDS 10%. Semua proses harus dilakukan pada kondisi steril dan di dalam *Laminar Air Flow*. Hasil absorbansinya dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 550 nm. Persentase sel yang hidup dihitung berdasarkan data absorbansi kemudian dibuat kurva konsentrasi versus % nilai sel hidup dan dihitung harga  $\text{IC}_{50}$  nya dengan rumus:

$$\text{Persentase sel hidup} = (\text{Abs perlakuan} - \text{Abs kontrol media}) / (\text{Abs kontrol pelarut} - \text{Abs kontrol media}) \times 100\%$$

### Hasil dan Pembahasan

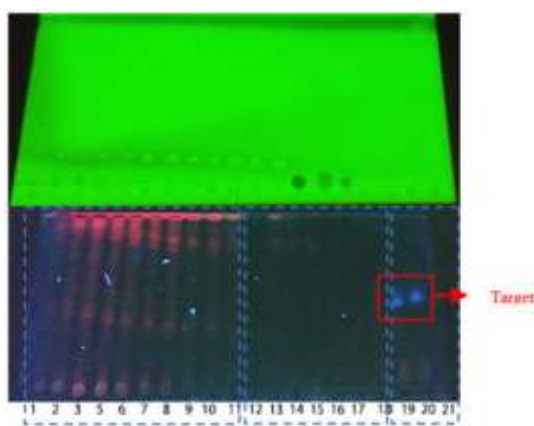
#### *Ekstraksi*

Brokoli diekstraksi dengan metode ekstraksi sonikasi menggunakan pelarut metanol. Perbandingan antara pelarut dan simplisia yang digunakan yaitu 1:4. Penggunaan pelarut metanol yang bersifat semi polar dimaksudkan agar semua senyawa polar dan non polar yang terdapat pada tanaman brokoli dapat terambil semua. Penggunaan alat sonikator dalam proses ekstraksi dimaksudkan mengoptimalkan ekstraksi dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk dapat menghancurkan sampai sel-sel simplisia tanaman. Sementara itu energi panas yang

ditimbulkan gelombang mikro untuk proses meningkatkan penetrasi cairan pelarut kedalam jaringan simplisia. Adanya faktor tersebut dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa antioksidan dari sel daun sehingga mempercepat waktu ekstraksi dan meningkatkan jumlah senyawa yang tersari (Utami *et al.*, 2009). Ekstrak kental yang diperoleh berwarna hijau pekat dengan bobot 33,73 g (rendamen 6,76%).

#### Fraksinasi

Proses isolasi senyawa dari brokoli menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) atau *Thin Layer Chromatography* (TLC). KLT sendiri merupakan teknik kromatografi yang banyak digunakan dalam analisis kualitatif senyawa organik yaitu dalam mengisolasi senyawa dari suatu campuran (Engel *et al.*, 2019). Hasil KLT dari fraksi etil asetat dengan fase gerak metanol - kloroform (1 : 9) dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil KLT fraksi etil asetat dengan Kromatografi kolom dan detektor UV 254 nm dan 366 nm

Diperoleh 21 sub fraksi yang memiliki bercak dengan nilai Rf yang sama pada plat KLT. Bercak yang memiliki RF sama digabungkan sehingga diperoleh 3 fraksi. Kemudian fraksi yang diambil adalah fraksi yang berwarna biru menyala dengan berat 83,7 mg.

#### Purifikasi

Purifikasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi sephadex dan KLT preparatif. Noda yang sudah tunggal diambil kemudian ditimbang. Hasil dari kromatografi kolom nomor 19 dan 20 diperoleh fraksi dengan bobot 118,3 mg kemudian di kromatografi sephadex dan di elusi dengan metanol sebagai eluennya. Fraksi-fraksinya ditampung dalam botol kaca setiap 20 ml kemudian di monitoring dengan KLT.

Proses purifikasi pada Gambar 2 menunjukkan bahwa dari hasil sephadex diperoleh 18 sub fraksi yang kemudian dicek profil pemisahannya pada UV 254 nm dan 366 nm. Fraksi yang memiliki RF sama digabungkan sehingga diperoleh 4 sub fraksi. Sub fraksi nomor 3 dipilih kemudian ditimbang bobotnya dan diperoleh sebanyak 67,5 mg. Subfraksi tersebut kemudian dilakukan pemurnian dengan metode KLT preparatif dengan fase diam silica GF<sub>254</sub> RP-18 dan fase gerak methanol - air (1:1). Isolat tersebut kemudian dicek menggunakan KLT apakah hanya terdiri atas noda tunggal atau masih ada beberapa noda. Hasil dari pemurnian diperoleh 2 isolat. Isolat 1 tidak diambil karena noda nya sangat tipis. Isolat 2 diambil namun masih

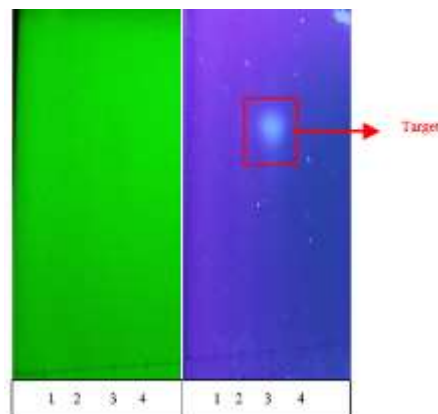
memiliki 2 noda sehingga kembali dilakukan KLT preparatif dengan fase gerak kloroform.

Hasil dari pemurnian diperoleh 1 noda dengan bobot isolat 8 mg. Sebagaimana diketahui, komponen utama dari brokoli merupakan flavonoid. Menurut Liang(2006) senyawa utama yang menyusun brokoli adalah *sulforaphane*. Jumlah isolat yang diperoleh rendah kemungkinan karena faktor pemanasan pada tahap pemisahan pelarut dengan sample. Karena *sulforaphane* sendiri menurut penelitian kurang stabil pada suhu tinggi (García-Saldaña *et al.*, 2016). *Sulforaphane* rentan terhadap degradasi oleh oksigen, panas dan kondisi basa (Qian, Hao, & Qipeng, 2007).

#### Identifikasi dan Penentuan Struktur Isolat

Identifikasi dan penentuan struktur senyawa dari isolat yang telah diperoleh berdasarkan data spektra FT-IR dan spektra H-NMR.

Pengukuran FT-IR dari isolat brokoli menunjukkan profil yang hampir sama dengan spektra *sulforaphane* standar (Gambar 3). Pita pada  $2924\text{ cm}^{-1}$  yang disebabkan oleh pita peregangan C – H pada tulang punggung di standar *sulforaphane*. Peregangan unik N = C = O, N = C = S, N = C = N, N<sub>3</sub>, C = C = O kelompok dalam *isothiocyanate* berada di kisaran  $2100 \sim 2270\text{ cm}^{-1}$ . Dengan demikian, keberadaan *sulforaphane* dapat ditandai dengan penyerapan dan berpusat pada  $2101,98\text{ cm}^{-1}$  (Pocasap *et al.*, 2013).



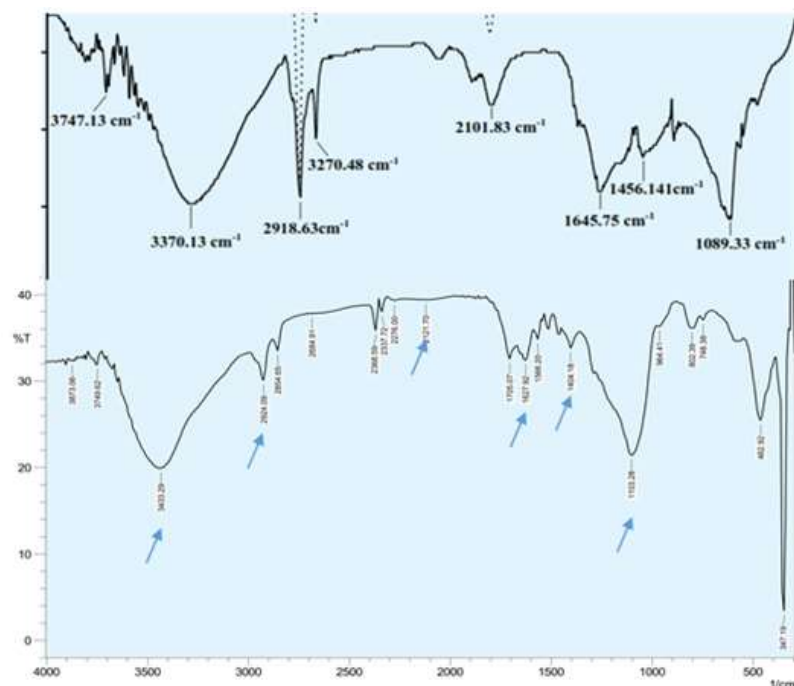
**Gambar 2.** Profil KLT fraksi sephadex dengan fase gerak methanol - air (1:1), diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm

Selain itu, alkena C = C meregangkan pita absorpsi antara  $1700 \sim 1627\text{ cm}^{-1}$  ditemukan dalam kasus sample tetapi tidak di standar *sulforaphane*. Atau, ikatan C-C tunggal yang menyerap sekitar  $1103\text{ cm}^{-1}$  ditemukan di standar *sulforaphane*. Kedua gugus fungsional muncul dalam sampel yang isolat brokoli. Dan pita serapan muncul pada  $1450\text{ cm}^{-1}$  sesuai dengan kelompok fungsi lain (S = O) dalam bidang lentur dari tulang punggung *sulforaphane*.

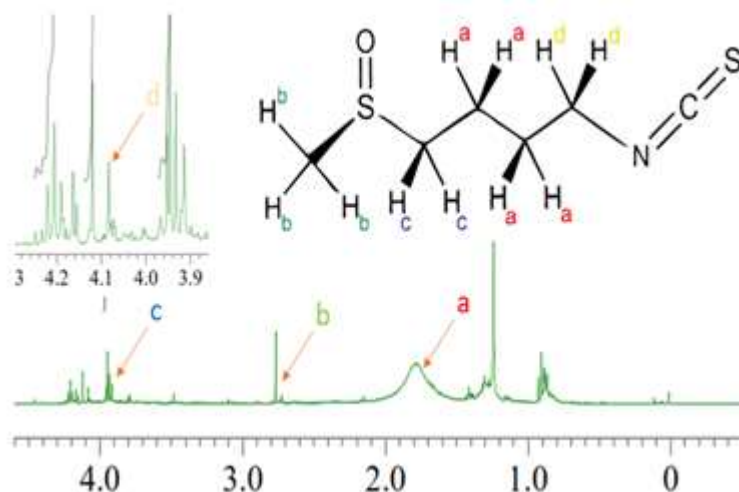
Analisis dengan spektrometer <sup>1</sup>H-NMR dilakukan menggunakan frekuensi 400 MHz dengan pelarut CDCl<sub>3</sub> (kloroform deuterium). Spektra <sup>1</sup>H-NMR terdapat pada <sup>1</sup>H NMR terdapat paada  $\delta\text{H } 2,768\text{ ppm}$  (3H, *singlet*),  $4,191 - 4,221\text{ ppm}$  (2H, *triplet*) (*q*, J = 7,6 Hz) dan  $1,01\text{ ppm}$  (*q*, J = 6,8 Hz) isolat brokoli menunjukkan adanya 4 lingkungan kimia proton dengan jumlah



integrasi sebanyak 11 (Gambar 4, Tabel 2).



**Gambar 3.** Spektre FTIR Sulforaphane standard (atas) dan sulforaphane yang diisolasi dari brokoli (bawah)



**Gambar 4.** Spektre H-NMR isolat brokoli

**Tabel 2.** Data H-NMR isolat brokoli

Posisi	H NMR (ppm); (multiplicity, J(Hz)) isolat brokoli	H NMR (ppm); (multiplicity, Integral, J(Hz)) sulforaphane standar
a	1,78 ; (s, 7,2 Hz)	1.67 ; (m, 4 H, 7,2 Hz)
b	2,76 ; (s, 6,8 Hz, )	2.77 ; (m, 2 H, 6,8 Hz)
c	3,94 - 3,95 ; (m, 6,8 Hz)	3.76 ; (s, 2 H, 6,8 Hz)
d	4,19 - 4,22 ; (t, 7,2 Hz)	4.12 - 4.21 ; (t, 2 H, 7.2 Hz)



Hasil analisis H-NMR dari sampel menunjukkan Proton a dari metil (-CH<sub>3</sub>) muncul sebagai singlet pada geseran kimia 2,76 ppm dengan integral 3H, karena berada di dekat heteroatom S sehingga tidak merasakan keberadaan atom H dari C tetangga. Proton a berdasarkan referensi seharusnya muncul pada geseran kimia 0,7-1,3 ppm tetapi pada spektra muncul pada geseran kimia 2,76 ppm dikarenakan berada dekat dengan atom elektronegatif S. Lingkungan proton yang kedua adalah proton b dari metilen (-CH<sub>2</sub>-) yang muncul sebagai triplet pada geseran kimia 4,19-4,22 ppm dengan coupling = 6Hz dan integral 2H, proton ini berada

*Aktivitas Antikanker*

Aktivitas antikanker diperoleh berdasarkan pengujian sitotoksik dari isolat terhadap sel T47D dengan metode MTT Assay. Pengujian aktivitas dari hasil isolasi brokoli terhadap sel kanker T47D dilakukan dengan menambahkan sejumlah sampel dengan berbagai tingkat konsentrasi kedalam sel uji kemudian diinkubasi selama 48 jam. Berbagai tingkat konsentrasi dari sampel digunakan untuk menghitung pengaruh dari setiap

lebih *down-field* karena berdekatan dengan atom elektronegatif S. Lingkungan proton yang selanjutnya adalah proton c dari metilen (-CH<sub>2</sub>-) muncul pada geseran kimia 0,88-0,90 ppm sebagai multiplet dengan integral 4H. Proton ini muncul pada daerah *up-field* karena tidak berdekatan dengan atom elektronegatif. Lingkungan proton yang terakhir adalah proton d dari metilen (-CH<sub>2</sub>-) yang muncul sebagai multiplet dengan integral 2H pada geseran kimia 3,94-3,95 ppm. Proton ini muncul didekat atom elektronegatif N. Analisis H NMR dari sampel yang dimurnikan menunjukkan isolat tersebut adalah senyawa *sulforaphane*.

konsentrasi terhadap % sel hidup. Perhitungan antara log konsentrasi terhadap % sel hidup dilakukan dengan metode regresi linier dengan persamaan  $Y = Bx + A$  dimana Y merupakan angka probit. Setelah itu dapat diketahui nilai IC<sub>50</sub> dari setiap senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker T47D. Berikut merupakan profil sitotoksik dan nilai IC<sub>50</sub> dari isolat 1 terhadap sel kanker T47D. Hasil uji IC<sub>50</sub> dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Nilai IC<sub>50</sub> sampel uji terhadap sel T47D

Parameter	Ekstrak	Fraksi	Isolat
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	46.853	25.559	109.950
Kategori	Tidak aktif	Tidak aktif	Tidak aktif

Keterangan: Kategori sitotoksik berdasarkan *National Cancer Intitute* (Mahavorasirikul *et al.*, 2010; Oskoueian *et al.*, 2011), yaitu aktif (IC<sub>50</sub> < 30 µg/mL), moderat (IC<sub>50</sub> 30-100 µg/mL), dan tidak aktif (IC<sub>50</sub> > 100 µg/mL)

Hasil nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak, fraksi dan isolat brokoli terhadap sel T47D menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak brokoli yaitu 46.853  $\mu\text{g/mL}$ , nilai  $IC_{50}$  dari fraksi brokoli yaitu 25.559  $\mu\text{g/mL}$  dan nilai  $IC_{50}$  dari isolat brokoli yaitu 109.950  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan pada *National Cancer Institute* bahwa ekstrak, fraksi dan isolat brokoli tidak aktif terhadap sel kanker T47D karena memiliki nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ . Uji sitotoksik dari senyawa hasil isolasi dilakukan terhadap sel kanker T47D. Uji sitotoksik terhadap sel kanker T47D diperoleh hasil nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak brokoli yaitu 46.853  $\mu\text{g/mL}$ , nilai  $IC_{50}$  fraksi etil esetat brokoli yaitu 25.559  $\mu\text{g/mL}$  dan nilai  $IC_{50}$  isolat dari 109.950  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan penelitian sebelumnya Lee *et al* (2003), pengujian sitotoksik dari ekstrak brokoli dapat mengurangi resiko kanker payudara pada populasi orang diet dengan sayuran keluarga *cruciferous*. Anna Pawlik dkk. (2015) melaporkan bahwa kombinasi *sulforaphane* dengan 4-hydroxytamoxifen melawan sel T47D dan MCF-7 yang resisten 4-hydroxytamoxifen, menghambat 20% lebih banyak sel daripada pengobatan *sulforaphane* saja dan 30-50% lebih rendah daripada viabilitas sel saat dirawat dengan 4-hydroxy-tamoxifen saja. Sedangkan menurut Pledge-Tracy dkk.(2007) aktivitas *sulforaphane* murni terhadap sel kanker T47D memiliki nilai  $IC_{50}$  9,5  $\mu\text{Mol/L}$ . Secara umum dapat disimpulkan bahwa

ekstrak brokoli, fraksi etil asetat brokoli dan isolat brokoli bersifat tidak aktif terhadap sel kanker T47D karena memiliki nilai  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ . Hal ini kemungkinan disebabkan karena sebagian besar *sulforaphane* teroksidasi selama proses ekstraksi yang melibatkan suhu tinggi dan mengabaikan pH pelarut sehingga efektifitas sitotoksiknya rendah.

### Kesimpulan

Metode isolasi yang digunakan berhasil mengidentifikasi senyawa Metabolit sekunder utama yang terdapat dalam brokoli adalah flavonoid. *Major compound* atau senyawa utama dari brokoli adalah *sulforaphane*. Senyawa tersebut termasuk kedalam golongan senyawa sulfoksida. Pengujian sitotoksik dari ekstrak, fraksi dan isolat brokoli menunjukkan bahwa ketiganya tidak aktif terhadap sel kanker T47D. Pada sel kanker T47D nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak brokoli yaitu 46.853  $\mu\text{g/mL}$ , nilai  $IC_{50}$  fraksi etil esetat brokoli yaitu 25.559  $\mu\text{g/mL}$  dan nilai  $IC_{50}$  isolat dari 109.950  $\mu\text{g/mL}$ .

### Daftar Pustaka

- Anna Pawlik, M.S.A.H.(2015). *Sensitization of estrogen receptor-positive breast cancer cell lines.pdf*.
- Atun Sri. (2014). *metode isolasi dan identifikasi senyawa kimia bahan alam*. 53–61.
- Chen, X., Li, Z., Sun, X., Ma, H., Chen, X., Ren, J., & Hu, K. (2011). New

- method for the synthesis of *sulforaphane* and related isothiocyanates. *Synthesis*, 2(24), 3991–3996.
- Engel, K. M., Griesinger, H., Schulz, M., & Schiller, J. (2019). Normal-phase versus reversed-phase thin-layer chromatography (TLC) to monitor oxidized phosphatidylcholines by TLC/mass spectrometry. In *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (Vol. 33, Issue S1, pp. 60–65).
- García-Saldaña, J. S., Campas-Baypoli, O. N., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Cantú-Soto, E. U., & Rodríguez-Ramírez, R. (2016). Microencapsulation of *sulforaphane* from broccoli seed extracts by gelatin/gum Arabic and gelatin/pectin complexes. *Food Chemistry*, 201(October 2017), 94–100.
- Giorgetti, L., Giorgi, G., Cherubini, E., Gervasi, P. G., Della Croce, C. M., Longo, V., & Bellani, L. (2018). Screening and identification of major phytochemical compounds in seeds, sprouts and leaves of Tuscan black kale *Brassica oleracea* (L.) ssp *acephala* (DC) var. *sabellica* L. *Natural Product Research*, 32(14), 1617–1626.
- Hafezian, S. M., Azizi, S. N., Biparva, P., & Bekhradnia, A. (2019). High-efficiency purification of *sulforaphane* from the broccoli extract by nanostructured SBA-15 silica using solid-phase extraction method. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1108(July 2018), 1–10.
- Han, D., & Row, K. H. (2011). Separation and purification of *sulforaphane* from broccoli by solid phase extraction. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(3), 1854–1861.
- Lee, I. M., Sesso, H. D., Oguma, Y., & Paffenbarger, R. S. (2003). Relative intensity of physical activity and risk of coronary heart disease. *Circulation*, 107(8), 1110–1116.
- Li, C., Liang, H., Yuan, Q., & Hou, X. (2008). Optimization of *sulforaphane* separation from broccoli seeds by macroporous resins. *Separation Science and Technology*, 43(3), 609–623.
- Liang, H., Yuan, Q. P., Dong, H. R., & Liu, Y. M. (2006). Determination of *sulforaphane* in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(5), 473–476.
- Liang, Hao, Yuan, Q., & Xiao, Q. (2005). Purification of *sulforaphane* from *Brassica oleracea* seed meal using low-pressure column chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 828(1–2), 91–96.
- Mahavorasirikul, W., Viyanant, V., Chaijaroenkul, W., Itharat, A., & Na-Bangchang, K. (2010). Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells in vitro. *BMC Complementary and*

- Alternative Medicine*, 10, 4–11.
- Matusheski, N. V., Juvik, J. A., & Jeffery, E. H. (2004). Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases *sulforaphane* formation in broccoli. *Phytochemistry*, 65(9), 1273–1281.
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Saad, W. Z., Omar, A. R., Ahmad, S., Kuan, W. Bin, Zolkifli, N. A., Hendra, R., & Ho, Y. W. (2011). Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of metanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(1), 49–57.
- Pledge-Tracy, A., Sobolewski, M. D., & Davidson, N. E. (2007). *Sulforaphane* induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(3), 1013–1021. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0494>
- Pocasap, P., Weerapreeyakul, N., & Barusrux, S. (2013). Cancer preventive effect of Thai rat-tailed radish (*Raphanus sativus* L. var. *caudatus* Alef). *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1372–1381. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.05.005>
- Rahmatia, T. U. (2016). Metode SPE Sebagai Alternatif Terbaru Dalam Analisis dan Pemurnian Senyawa Obat. *Farmaka*, 14(2), 151–170.
- Rumondor, M. J., Mandang, J., & Rotinsulu, W. (2013). Peningkatan Sulforafan Brokoli (*Brassica oleraceae* L. var ) Dengan Modifikasi Media Pada Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA*, 2(1), 60. <https://doi.org/10.35799/jm.2.1.2013.980>
- Sita, G., Hrelia, P., Graziosi, A., & Morroni, F. (2018). *Sulforaphane* from cruciferous vegetables: Recent advances to improve glioblastoma treatment. *Nutrients*, 10(11), 1755.
- Suresh, S., Waly, M. I., & Rahman, M. S. (2018). Broccoli (*Brassica oleracea*) as a preventive biomaterial for cancer. *Bioactive Components, Diet and Medical Treatment in Cancer Prevention*, 75–87.
- Suresh, S., Waly, M. I., Rahman, M. S., Guizani, N., Al-Kindi, M. A. B., Al-Issaei, H. K. A., Al-Maskari, S. N. M., Al-Ruqaishi, B. R. S., & Al-Salami, A. (2017). Broccoli (*Brassica oleracea*) Reduces Oxidative Damage to Pancreatic Tissue and Combats Hyperglycaemia in Diabetic Rats. *Preventive Nutrition and Food Science*, 22(4), 277–284.
- Tahata, S., Singh, S. V., Lin, Y., Hahm, E. R., Beumer, J. H., Christner, S. M., Rao, U. N., Sander, C., Tarhini, A. A., Tawbi, H., Ferris, L. K., Wilson, M., Rose, A., Dietz, C. M., Hughes, E., Fahey, J. W., Leachman, S. A., Cassidy, P. B., Butterfield, L. H., ... Kirkwood, J. M. (2018). Evaluation of biodistribution of *sulforaphane* after administration of oral broccoli sprout extract in melanoma patients with multiple atypical nevi. *Cancer Prevention Research*, 11(7), 429–437.
- Utami, T. S., Arbianti, R., Hermansyah, H., & Reza, A. (2009). *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia –*

*SNTKI 2009 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpur (Dillenia indica) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia – SNTKI 2009*

*SPP16-2. 19–20.*

Wieczorek, M. N., & Jelen, H. H. (2019). Volatile compounds of selected raw and cooked Brassica vegetables. *Molecules*, 24(3).